國際農業合作技術交流

刺探電位圖譜監測儀在農業之應用

▌農試所／石憲宗．黃莉欣．曾美容．Elaine A. Backus．林柏安

前言

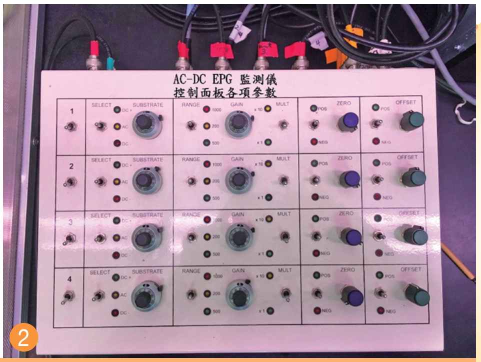
薊馬、蚜蟲、粉蝨、木蝨、介殼蟲、飛蝨、葉蟬、沫蟬、角蟬、椿象等農業重要害蟲，以其刺吸式口器，吸食植物汁液，造成水分或養分流失之直接危害；其間接危害所造成之經濟損失，不亞於直接危害，例如蚜蟲、粉蝨、木蝨、介殼蟲等韌皮部取食習性昆蟲，因吸食富含碳水化合物的篩管汁液，經肛門排出之廢液 (即蜜露) 成為適合真菌生長的天然培養基，致使廢液覆蓋之處布滿菌絲，被稱之為煤煙病，影響植物光合作用，造成生長勢衰弱。除此，尚有為數不少的刺吸式口器昆蟲，因具傳播植物病原微生物 (如病毒、植物病原原核生物) 的能力，被稱之為媒介昆蟲，加以其所傳播之此類蟲媒病原，通常並無有效藥劑可以治療，成為產業發展之重要限制因子 (如葡萄皮爾斯病、柑橘黃龍病、植物毒素病等)。刺吸式口器昆蟲對植物直接或間接危害的方式，與其取食習性有關。然因此類害蟲之初期危害徵狀並不明顯，直到農友發現其直接或間接危害徵狀時，通常已錯失田間之適當防治時機。為研擬有效的整合管理策略，首要步驟必需確認此類害蟲的取食行為，其後才能瞭解取食行為、寄主選擇及傳病特性的相互關係。由於早期並無任何儀器可觀察或呈現刺吸式口器昆蟲，其口針從刺探、穿刺植物組織，乃至吸食植物組織汁液等活動過程，致使研究此類昆蟲的取食行為、對植物損害方式與傳病機制等相關研究，僅能間接透過觀察昆蟲遺留在植物組織內部的唾液鞘、或分析昆蟲肛門所排出之廢液成份、或觀察媒介昆蟲吸食罹病植物病原以及傳播至健康植物之傳病效率等方式，瞭解或推測刺吸式口器昆蟲之取食行為，此些瓶頸直至第一代刺探電位圖譜監測儀 (electrical penetration graph monitor, 以下簡稱 EPG 監測儀) 發明之後，才逐步解決。

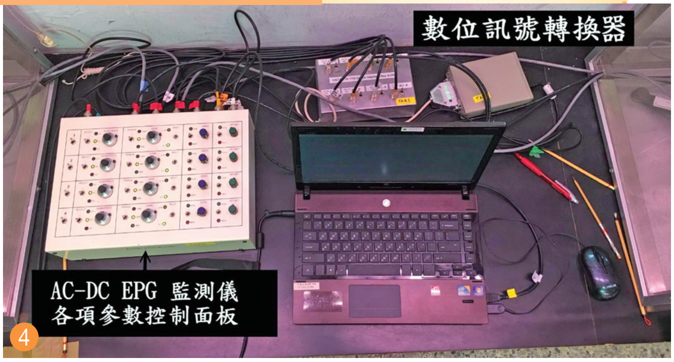
本文將簡要陳述 EPG 監測儀原理與操作、發展簡史、農業應用實例、引進臺灣緣由與未來展望，使讀者透過瞭解此技術之應用潛力後，未來可視產業需求，運用此技術進行跨領域合作研究，縮短研究時程，提升研究效能，其他有關 EPG 監測儀之詳細內容，讀者可參閱 Backus *et al*. (2016) 之報告內容。

原理與操作

應用 EPG 監測儀研究刺吸式口器昆蟲取食行為的目的，主要是想透過電子儀器予以量化記錄此類昆蟲在寄主植物之刺探和取食行為，包括可在連續時間記錄不同刺探與取食行為之波形及其發生時段，並配合前言所述之傳統取食行為觀察試驗或近代發展的方法 (如利用切片技術，以穿透式電子顯微鏡或高階光學顯微鏡，觀察口針於組織內部的穿刺情形)，建立關聯性，進而將不同的波形予以分類定義。圖 1. 所示為第三代之 AC-DC EPG 系統，包括 AC-DC EPG 監測儀、法拉第籠、數位訊號轉換器、DATAQ 分析軟體及電腦。

EPG 監測儀設計的核心原理與電路學密切相關，主要是由外部供應電源給監測儀，透過監測儀與昆蟲電極及植物 (含土壤) 電極連線，當昆蟲口針刺入植物時，形成一個完整的電流迴路，電流傳回 EPG 監測儀 (圖2～4)，經放大以及電子訊號數位化之後，於電腦軟體





圖說：
1. 農業試驗所應用動物組購置之 AC-DC EPG 系統
2. AC-DC EPG 監測儀控制面板上之各項調控參數
3. AC-DC EPG 監測儀控制面板後方之線路說明
4. AC-DC EPG 監測儀、數位訊號轉換器與電腦之關聯圖

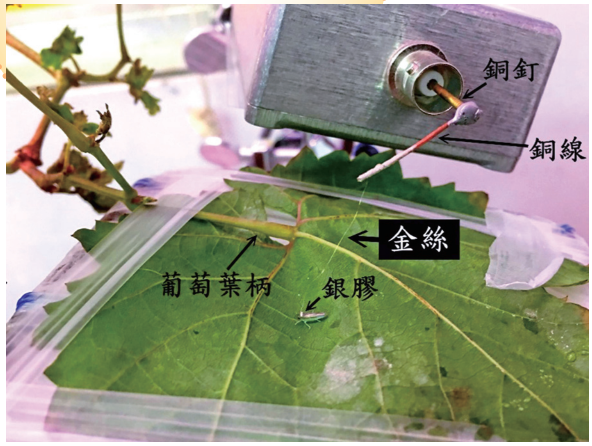
中可呈現出觀測時段內的所有波形變化。前述於供應 EPG 監測儀之穩定電源，經過植物昆蟲界面 (plant-insect interface)，因受到變動的生物電位 (biopotential或biological voltage) 與變動的電阻 (electrical resistance) 影響，使原本的固定電壓，成為一種持續變動的模式，經由連續記錄一段時間內電壓的變動，最終成為 EPG 儀器中呈現的波形 (waveforms)。

下列為昆蟲電極與植物電極 (圖 5) 簡述：

(一) 昆蟲電極：(1) 以直徑 10~60 μm 與長約 3cm 的金絲，作為連結昆蟲前胸背板與生物電流放大器外接銅釘之間的導體 (圖 6)。金絲直徑大小，主要視目標昆蟲的體型而定；少數體型纖細如粉蝨的昆蟲，使用上述直徑範圍金絲，將限制其活動性，故某些學者會使用直徑更細之裹銀白金絲 (稱為 Wollaston wire，直徑約 2.5 μm) (使用前以 4% 硝酸溶液進行脫銀，以露出的白金絲作為導體)，作為取代金絲的材料；(2) 於解剖顯微鏡下，將金絲或裹銀白金絲其中一端的末端，以尖鑷將金絲繞成微小環圈，以銀膠 (具導電功能，採水溶性膠為宜，有機溶劑會傷害昆蟲，不宜使用) 將金絲之微小環圈，沾黏在昆蟲前胸背板或背部；再將另端纏繞黏在銅釘頭部之銅絲上，完成後將銅釘插入可調控電阻值大小之生物電流放大器，生物電流放大器再與 EPG 監測儀相連，即形成昆蟲電極 (圖 6)。

(二) 植物電極：將目標植物種在盆栽中 (盆栽需墊底盤)，將土壤探針 (由粗銅線製成) 插入接近植株的盆栽土壤中，試驗前先將盆栽適當澆水，另端則與 EPG 監測儀相連。

←圖5. 置於法拉第籠內部之昆蟲電極、植物電極及其線路說明
↓圖6. 以直徑 10~60μm 及長度 3cm 的金絲，作為連結昆蟲前胸背板與生物電流放大器外接銅釘之間的導體



發展簡史

第一代 EPG 監測儀稱為「交流電監測儀 (AC monitor, 其後稱為 Electronic Monitoring System (EMS))」，由美國加州大學戴維斯分校 (University of California, Davis) 之 Donald L. McLean 和 Marvin G. Kinsey 兩位學者於 1964 年發明，以交流電為輸入電源，其電訊放大器 (amplifier) 敏感度較低，使用 10^6 歐姆 (ohm) 的低值輸入電阻，交流電監測儀所記錄的訊號變化，主要是透過電流通過昆蟲口針中的液體電阻 (即變動電阻)，故交流電監測儀可記錄昆蟲口針穿刺植物組織的過程、唾液分泌、唾液鞘形成 (即目前所稱之昆蟲口針穿刺的路徑階段 (pathway))、口針移動 (例如口針的伸長或收縮) 及口針與維管束組織的接觸 (例如穿刺韌皮部或木質部)，此型監測儀初期之應用對象為蚜蟲，隨後被用於監測葉蟬、飛蝨與角蟬等昆蟲之取食行為。

第二代 EPG 監測儀是由美國康乃爾大學 (Cornell University) 的 George A. Schaeffers 於 1966 年發明，是以直流電作為輸入電源的「直流電監測儀 (DC monitor)」，後經荷蘭瓦赫寧根大學 (Wageningen University) 的 W. F. Tjallingii (1978) 改良，包括使用法拉第籠 (Faraday cages) (圖 1) 控制與降低環境中電子干擾的訊號、使用 FM 帶狀紀錄器、藉由提高輸入電阻值至 10^9 歐姆，提高儀器電訊放大器的敏感度，使其可將生物微電流 (mV) 放大至 50～5,000 倍，並使輸出波形達到準確、細緻與重覆性更高的技術。第二代 EPG 監測儀 (圖 9) 主要被用於監測蚜蟲、粉蝨、木蝨、薊馬等小型昆蟲之取食行為，但隨著第一代 EPG 監測儀於 2000 年停產之後，直流電監測儀幾乎成為所有刺吸式口器昆蟲唯一可以使用的監測儀。

為了增加 EPG 監測儀選擇昆蟲的彈性，美國農部加州帕黎爾分部 (USDA-ARS in Parlier) 資深昆蟲專家 Dr. Elaine A. Backus 與密蘇里大學 (University of Missouri) 的 William H. Bennett 共同研發第三代 EPG 監測儀，又稱為 AC-DC EPG 監測儀 (圖 1～6)。雖然被命名為「AC-DC」，卻與第一代的交流電監測儀不同，第三代 EPG 監測儀完整保留了第二代儀器的功能，包括偵測 emf 成分的功能，然而在第三代的改良之下，即便使用交流電 (AC) 為供應電源，也可記錄到 emf 成分，因此也可應用在那些對直流電較敏感的昆蟲種類。除此，第三代 EPG 監測儀是全球唯一可提供研究人員選擇 6 種輸入電阻之 EPG 監測儀，包括 10^6, 10^7, 10^8, 10^9, 10^{10} 與 10^{13} 歐姆，擁有非常精確及細緻的調控面板 (圖 2～4)，相較於前兩代 EPG 監測儀，能夠很精確的調整測試條件，例如輸入電壓值以及訊號放大值，使實驗具高度的再現性。

農業應用實例

EPG 監測儀 發展迄今已超過 50 年，初估已成功應用於 50 餘種昆蟲之刺探與取食行為

的 EPG 波形研究。在此基礎上，目前 EPG 監測儀已廣泛應用於監測對寄主植物選擇性、昆蟲傳播植物病原微生物 (如植物病毒及植物原核生物等) 的機制、植物抗蟲機制以及檢測系統性農藥對害蟲取食行為影響等行為生態學領域，也是昆蟲生理學領域之研究重點，研究對象從第一代 EPG 監測儀以蚜蟲為主要研究目標，迄今已廣泛運用於薊馬、粉蝨、木蝨、介殼蟲、葉蟬、沫蟬、角蟬、飛蝨與椿象等農業關鍵害蟲。茲將 EPG 在農業之應用實例簡述如下，讓讀者瞭解 EPG 技術之應用層面需透過跨領域的積極合作，以提供農業產官學界同行，瞭解未來倘欲運用 EPG 監測儀，那些跨領域研究主題，才是當前必需優先推動的目標。

一、在寄主和非寄主植物之刺探與取食行為差異相關研究

以蚜蟲為例，其取食波形主要包括路徑階段 (pathway phase，包括波形 A, B, C, F 與 pd)、韌皮部階段 (phloem phase，包括波形 E1 與 E2：E2 波通常跟隨在 E1 波之後，此表明蚜蟲口針已抵達韌皮部，並成功取食；倘若 E1 波之後，未發生 E2 波，表示蚜蟲口針雖抵達韌皮部與分泌水溶性唾液，卻未能成功取食) 及木質部階段 (xylem phase，即波形 G)；非刺探行為則為波形 np。

歸納往昔與蚜蟲有關之 EPG 應用研究，顯示 (1) 所有蚜蟲具有相似的取食波形，不同刺探與取食行為，具有不同的波形，此可解釋為何 EPG 應用研究仍以蚜蟲偏多；(2) 多食性蚜蟲的口針，在永久性寄主、偶然性寄主與非寄主作物之韌皮部平均取食時間，依序明顯遞減，此已廣泛應用在快速檢測寄主偏好性的研究；(3) 同種蚜蟲在同種寄主植物不同部位，如果存在明顯的取食行為差異，則可解釋不同部位 (例如花器、嫩芽、幼葉、老葉等) 之植物次級代謝產物分布濃度不同，甚或存在不同的代謝產物，此部分已普遍應用在甘藍蚜與寄主次級代謝產物的研究。

二、在植物抗性相關研究

胡想順等 (2008) 比較長麥管蚜 (*Sitobion avenae* (Fab.)) 於三個小麥品系之取食行為，發現抗性因子若屬寄主本身分泌之忌避劑，則其刺探前的非刺探 (np 波) 時間拉長；抗性因子若存在於表皮層，則其口針不易刺入，刺探的中斷頻率明顯偏高；若存在於葉肉組織，則 C 波波程 (指此波形的總發生時間) 會發生變化；若存在於韌皮部，則 E1 波 (分泌水溶性唾液) 波程會發生變化，E2 波 (被動取食) 的波程變短。若葉肉組織之物理抗性較佳，則 F 波波程長。另金珊等 (2012) 以 EPG 研究不同茶樹品種對假眼小綠葉蟬 (*Empoasca vitis* Göthe) 的抗性過程，為了瞭解將葉蟬之取食行為，作為茶樹抗葉蟬能力分級的唯一指標是否客觀或具準確性，另將假眼小綠葉蟬飼育在各種茶樹試驗品種，統計其生長發育、繁殖、存活率等數據分析，顯示 EPG 的試驗結果符合各品種上葉蟬之生命表統計結果，此意味

著 EPG 應用在刺吸式口器害蟲之作物抗蟲育種上，初期需與傳統抗蟲檢測之生活史試驗資料，建立害蟲在不同作物品系之 EPG 各類波形比例以及生命表參數的彼此對應關係。然後，從中將無法解釋的問題抽出，逐步檢驗與釐清抗蟲機制，為作物抗蟲育種建立跨領域、有效與快速之整合研究方案。除此，亦有將 EPG 應用在監測轉基因作物對非目標防治害蟲的影響評估，例如轉 Bt 基因棉葉片表面特性對非目標生物～棉蚜之生態安全評估。

三、媒介昆蟲傳播植物病原的相關研究

媒介昆蟲與其傳播的植物病原間，存在非常複雜的關係，但其取食行為與傳病效率密不可分。此類問題，在 EPG 發明後，已獲得相當多驗證。以蚜蟲為例，其為植物病毒之重要媒介昆蟲，蚜蟲取食波形 E 波，主要與傳播持續型病毒有關，而非持續型病毒的傳播則與 pd 波有關；除此，蚜蟲傳毒時需將病毒分泌至活細胞內，病毒方能存活，亦即穿刺細胞的 pd 波，對傳毒最為重要。故 pd 波的發生頻率，與獲得傳播非持續性病毒的效率，彼此間呈正相關。

另 2001 年於中國廣東省首次發現新的水稻病毒～南方水稻黑條矮縮病毒 (Southern rice blackstreaked dwarf virus, SRBSDV)，其媒介昆蟲為白背飛蝨 (*Sogatella furcifera* (Horváth))，Tu *et al*. (2013) 透過 EPG 技術，將正常健康未帶毒以及攜帶 SRBSDV 的白背飛蝨成蟲，接種在感染 SRBSDV 之稻株取食，結果顯示兩者成蟲壽命皆縮短，且繁殖力下降，至於攜帶 SRBSDV 的白背飛蝨若蟲，其發育期卻顯著變長，此代表 SRBSDV 不利媒介昆蟲白背飛蝨之種群增長，卻提升病毒獲取率及傳播效能；另何曉嬋等 (2015) 研究水稻感染 SRBSDV 後，對非媒介昆蟲之褐飛蝨的取食行為影響，造成口針到達取食位置的時間明顯變長。

除此，Stafford *et al*. (2011) 指出攜帶蕃茄斑萎病 (Tomato spotted wilt virus, TSWV) 的薊馬，其取食量與取食頻率，為健康未獲病毒者的三倍，此也說明某些媒介昆蟲為何會加速植物病毒的傳播。

四、在農藥生物檢定之相關研究

在植物施用對半翅目害蟲具專一性的藥劑～派滅淨 (pymetrozine)，可對調控蚜蟲取食行為的神經進行干擾，致使蚜蟲終止取食，EPG 最後的波形出現變形，顯示蚜蟲應該是飢餓致死 (Harrewijn & Kayser, 1997)；施用礦物油，則可提升桃蚜在辣椒上的刺探時間，降低在韌皮部的取食時間，進而降低桃蚜傳播馬鈴薯 Y 病毒的效率 (陳巨蓮，2001)。

EPG 監測儀技術引進臺灣緣由與未來展望

本文第一作者自 2002 年與藥毒所蘇秋竹研究員，合作研究臺灣葡萄皮爾斯病媒介昆蟲的相關傳病試驗，當時認為若能將 EPG 引入臺

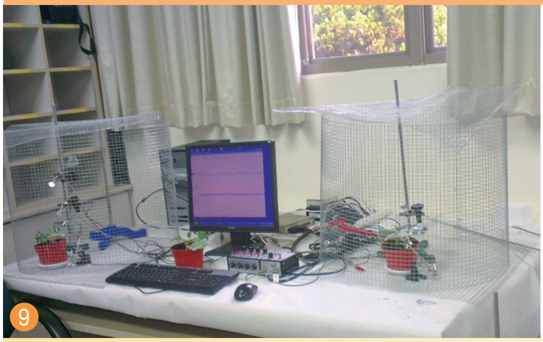
灣，將可大幅縮短確認寄主植物的傳統養蟲時程，並可加速剷除田間已確認之非寄主雜草防治工作，以大幅節省研究人力與時間。

由於我國往昔從未應用 EPG 監測儀技術從事相關研究的經驗，生物學相關教科書亦無此類資訊。為此，與農委會動植物防檢疫局植防組陳保良科長及蔡偉皇技正 (現轉任農委會科技處)，自 2010 年始盤點我國農作物蟲媒植物病原原核生物的研究缺口，並由防檢局與農試所在 2011 年辦理 「農作物害蟲及其媒介病害整合防治技術研討會」，並將其中可自國外導入之相關研究技術，列為農委會國際農業合作領域之動植物防檢疫推動小組的長程發展課題。因此，自 2012～2015 年期間，由農委會各試驗場所逐年依計畫研究重點，派遣相關專家至國外學習新技術，或邀請國際學者來臺辦理專業訓練班，期望藉此將國外值得學習新技術，導入我國果蔬糧作產業，降低媒介昆蟲與蟲媒作物病原對產業所造成的重大經濟損失，另也請研習專家歸國後，將國外具農業實務應用潛力之新技術，再提供給農委會參考，以落實農委會發展國際農業科技合作為一長程及可應用在解決產業缺口的施政目標。

2014 年動植物防檢疫推動小組，規劃「媒介昆蟲與作物病害之監測、損失評估及防治技術研究及推廣」議題，在導入「昆蟲刺探電位圖譜監測儀」技術部分，由本文第一作者擔任統籌計畫主持人，其下有兩個與 EPG 操作技術有關的細部計畫，包括 (1) 由第一作者農試所石憲宗赴美國農部加州帕里爾市經瓦金谷農業研究中心 (San Joaquin Valley Agricultural Sciences Center, Parlier, CA, USDA／ARS)，由 AC-DC EPG 發明者 Dr. Elaine A. Backus 指導 AC-DC EPG 之原理與操作技術 (含統計分析) 訓練課程。(2) 由第二作者藥毒所黃莉欣至美國加州大學河濱分校 (UC Riverside)，參加由 DC EPG 監測儀發明者 Freddy Tjallingii 教授辦理的「Electrical Penetration Graph (EPG) Workshop」，研習 DC EPG 監測儀的操作課程。

以上，第一與第二作者又分別以農試所與藥毒所之自辦計畫經費，於 2014 年與 2016 年編列預算，將 AC-DC EPG 監測儀 與 DC EPG 監測儀 兩部儀器引入臺灣，從事刺吸式口器昆蟲之相關研究；第一作者另於 2015 年二月二十五日至三月十九日，以農試所自辦計畫經費邀請 Dr. Elaine A. Backus 至農試所，針對 AC-DC EPG 系統，辦理「2015 年昆蟲刺探電位圖譜儀之操作與分析技術專題討論會」(圖 7～8)，將此技術推廣至農委會各試驗場所與相關大學；同年，第二作者透過國際合作計畫，於四月十四至十六日邀請美國加州大學河濱分校 Gregroy P. Walker 教授至藥毒所，針對 DC EPG 系統，辦理「昆蟲刺探電位測量系統 (Electric Penetration Graph, EPG) 研習會」(圖 9)，這兩個訓練班是臺灣首次密集辦理兩類型 EPG 監測儀專業訓練的開始。

以上有關 EPG 新技術導入臺灣研究過程，全賴諸多農業先進的鼎力協助，導入後，也持續進行國內外的跨域合作交流研究，在此也向



圖說：
7. 在農業試驗所舉辦之「昆蟲刺探電位圖譜儀操作與分析技術專題討論會」之正課課程
8. 在農業試驗所舉辦之「昆蟲刺探電位圖譜儀操作與分析技術專題討論會」與會人員合照
9. 農業藥物毒物試驗所舉辦之「昆蟲刺探電位測量系統研習會」
10. 在農業藥物毒物試驗所舉辦之「昆蟲刺探電位測量系統研習會」與會人員合照

下列各機關先進誌謝，包括 (1) 農委會陳昌岑技正、侯昇諭技正與蔡偉皇技正；動植物防疫檢疫局陳保良科長、徐孟豪技正、蔡馨儀技正以及未具名審查委員，大力支持國際農業合作領域及防檢領域相關計畫。(2) 農業試驗所應用動物組高靜華組長與張淑貞助理研究員，支持部分經費購置 AC-DC EPG 監測儀；農業藥物毒物試驗所長官支持購置 DC EPG 監測儀。(3) 國立臺灣大學昆蟲學系蔡志偉副教授，邀請國外專家來臺辦理 EPG 演講，分享 EPG 於國外之應用實例。(4) 水稻推動小組召集人呂秀英場長、執行秘書賴明信研究員支持第一作者以 AC-DC EPG 議題，參與農委會與國際稻米研究所 (International Rice Re- search Institute, IRRI) 共同辦理的 2016 年褐飛蝨永續管理整合策略國際研討會 (2016 Workshop on Brown

Planthopper (BPH)：Developing an integrative strategy for sustainable management of BPH)。(5) 水稻推動小組成員農試所李長沛副研究員與農試所嘉義分所黃守宏副研究員，與第一作者共同以 AC-DC EPG 進行水稻抗蟲育種的跨單位與跨域合作。

未來，我國所推動之 EPG 相關研究，可從基礎與應用研究的層面並進，基礎部分需參考國外已建立的 50 餘種各類刺吸式口器之取食波形定義，由於各類害蟲皆有其適用電流、共通或具明顯差異之波形，這些都可作為建立臺灣本土刺吸式口器害蟲 EPG 取食波形的比對依據。

另對 EPG 研究最常見的質疑問題：為何同種害蟲在同種寄主會有不同的取食波形，其波形之再現性比例穩定嗎？事實上，在同樣室內試驗環境，同種昆蟲之取食波形，仍受限於體型大小、性別、個體活動力、植物生理狀況影響，而有些微變異，但整體從口針刺探、穿刺不同部位至固定部位取食等主要波形，無論在 DC EPG 或 AC-DC EPG 都維持高度穩定，也就是波形再現性是無庸置疑的。除此，EPG 的波形，除透過傳統取食行為判斷方法之外，其他輔助判斷波形的方法，尚有運用光學顯微鏡或穿透式電子顯微鏡觀察口針部位，以口針切斷技術檢測口針內部有無汁液，作為吸食與否的佐證等等，將不同的方法予以整合運用，建立客觀與準確性的波形資訊。

至於在應用研究部分，詳如本文前述，EPG 是讓研究人員從中判讀具有意義的波形，進而將其應用在如何解決問題，例如從已知經驗判斷昆蟲之取食行為可能受植物次級代謝產物所影響，此時需有技術可鑑定次級代謝產物之化學成分及其可能分布部位，其後再逐步驗證，以判斷該成分是否具有作物抗蟲育種的應用價值。因此 EPG 之研究範疇與產業上的應用，已涉及跨領域專業研究與資源的整合。未來，國內應可透過跨機關討論，研擬共同目標，由整合研究縮短研究時程及節省研究資源。目前，歐美及中國已廣泛運用 EPG 從事果蔬糧作之抗蟲育種及藥劑檢測研究，另也將 EPG 運用在驗證植物特定基因對目標昆蟲之影響研究，近年來由國外之昆蟲年會論文報告，也可發現運用 EPG 研究蚊子吸血、線蟲危害植物等研究。反觀我國當前，僅初步引入 EPG 從事農業昆蟲相關試驗研究，卻可透過國外既有報告或進行國際合作，研擬有利於我國農業科技發展的研究課題。

備　註

作者按：石憲宗、曾美容任職于農業試驗所；黃莉欣任職于農業藥物毒物試驗所；Elaine A. Backus 任職於美國農部加州帕里爾市經瓦金谷農業研究中心；林柏安為農業試驗所替代役退役人員，現於賓州州立大學昆蟲系攻讀博士班。

重要參考文獻

Backus, E. A., P. A. Lin, C. J. Chang, and H. T. Shih. 2016. Electropenetrography: A new diagnostic technology for study of feeding behavior of piercing-sucking insects. J. Taiwan Agric. Res. 65(3): 219-237.